

ISSN 2524-2431 (Online)

**МЕДИЦИНА**  
**MEDICINE**

УДК 57.053:577.333:577.164.2

Поступило в редакцию 11.09.2017

Received 11.09.2017

**Г. Г. Мартинович<sup>1</sup>, И. В. Мартинович<sup>1</sup>, А. В. Вчерашняя<sup>1</sup>, Н. К. Зенков<sup>2</sup>,  
Е. Б. Меньщикова<sup>2</sup>, академик С. Н. Черенкевич<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*<sup>2</sup>*Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины,  
Новосибирск, Российская Федерация***РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ  
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК АСКОРБАТОМ НАТРИЯ**

**Аннотация.** Исследовано влияние аскорбата в физиологических концентрациях на пролиферативную активность и химиорезистентность клеток карциномы гортани человека линии Нер-2. Установлено, что при действии аскорбата в концентрации 60 мкМ скорость пролиферации опухолевых клеток увеличивается в 1,5 раза. Аскорбат вызывает изменение функционального состояния опухолевых клеток, в результате которого увеличивается их резистентность к доxorубину и тимохинону. Показано, что ингибитор НАДФН-оксидазы апоцинин блокирует стимулирующий эффект антиоксиданта. Полученные результаты свидетельствуют об участии активных форм кислорода, продуцируемых НАДФН-оксидазой, в механизме активации адаптационного ответа клеток, индуцированного аскорбатом.

**Ключевые слова:** аскорбиновая кислота, химиорезистентность, опухолевые клетки, антиоксиданты, редокс-сигнализация, НАДФН-оксидаза

**Для цитирования:** Регуляция пролиферативной активности и химиорезистентности опухолевых клеток аскорбатом натрия / Г. Г. Мартинович [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 1. – С. 93–100.

**Grigory G. Martinovich<sup>1</sup>, Irina V. Martinovich<sup>1</sup>, Aleksandra V. Vcherashniaya<sup>1</sup>, Nikolai K. Zenkov<sup>2</sup>,  
Elena B. Menshchikova<sup>2</sup>, Academician Sergei N. Cherenkevich<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*<sup>2</sup>*Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Novosibirsk, Russian Federation***REGULATION OF THE PROLIFERATIVE ACTIVITY  
AND CHEMORESISTANCE IN TUMOR CELLS BY SODIUM ASCORBATE**

**Abstract.** The effect of ascorbate in physiological concentrations on the proliferative activity and chemoresistance in human larynx carcinoma Нер-2 cells was studied. Ascorbate in a concentration of 60 μM was found to increase the cancer cells proliferation rate 1.5 times. Ascorbate changes the functional state of the cancer cells, thereby increasing their resistance to doxorubicin and thymoquinone. It was shown that apocynin (NADPH oxidase inhibitor) blocks the stimulating effect of the antioxidant. The results obtained suggest that reactive oxygen species produced by NADPH oxidase participate in the mechanism of cell adaptive response induced by ascorbate.

**Keywords:** ascorbic acid, chemoresistance, tumor cells, antioxidants, redox signaling, NADPH oxidase

**For citation:** Martinovich G. G., Martinovich I. V., Vcherashniaya A. V., Zenkov N. K., Menshchikova E. B., Cherenkevich S. N. Regulation of the proliferative activity and chemoresistance in tumor cells by sodium ascorbate. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 1, pp. 93–100 (in Russian).

**Введение.** Поиск и разработка эффективных средств регуляции окислительно-восстановительных процессов в клетках относится к актуальным задачам современной медицинской биофизики. Важное место среди клеточных редокс-регуляторов занимает аскорбиновая кислота, широко используемая во многих биомедицинских технологиях.

Аскорбиновая кислота участвует в ряде биохимических процессов, включая гидроксирование коллагена, метаболизм тирозина, биосинтез карнитина и норадреналина [1]. При физиологических значениях рН аскорбиновая кислота находится в форме сопряженного основания (аскорбата) и является одним из основных внутриклеточных и внеклеточных восстановителей. В зависимости от локальных физико-химических условий (типа и концентрации окислителей, величины рН, концентрации металлов переменной валентности и др.) аскорбиновая кислота может проявлять как антиоксидантные, так и прооксидантные свойства. Предполагается, что прооксидантные свойства аскорбиновой кислоты определяют ее цитотоксичность в отношении опухолевых клеток, что создает предпосылки для использования данного редокс-активного соединения в противоопухолевой терапии.

Первые исследования противоопухолевых свойств аскорбиновой кислоты выполнены Е. Cameron и L. Pauling в 1970-х годах [2]. Было показано, что при введении 10 г аскорбиновой кислоты снижается смертность пациентов на поздней стадии рака. В исследованиях, проведенных позже С. Moertel и соавт. [3], не наблюдалось улучшения состояния здоровья у онкологических больных, принимавших по 10 г аскорбиновой кислоты, что поставило под сомнение возможность ее использования в качестве терапевтического агента в противоопухолевой терапии. Противоречивость результатов исследований противоопухолевых свойств аскорбиновой кислоты *in vivo* объясняется использованием разных методов введения аскорбиновой кислоты в организм пациента. В работах С. Moertel и соавт. аскорбиновую кислоту вводили только *per os*, а в исследованиях Е. Cameron и L. Pauling использовали также внутривенное введение. Показано, что внутривенное введение высоких доз антиоксиданта позволяет увеличить концентрацию аскорбиновой кислоты в крови в 70 раз, тогда как употребление высоких доз аскорбиновой кислоты *per os* увеличивает концентрацию антиоксиданта в крови только в несколько раз [4].

С использованием 43 линий опухолевых клеток и 5 линий нормальных клеточных типов показано, что аскорбиновая кислота в концентрациях свыше 4 мМ индуцирует гибель только опухолевых клеток [5]. В экспериментах *in vivo* на крысах также установлено, что аскорбиновая кислота в высоких дозах подавляет рост и метастазирование при гормонально-резистентном раке предстательной железы [6].

Исследования, проведенные *in vitro*, позволяют предположить, что цитотоксичность аскорбиновой кислоты в высоких концентрациях опосредована образованием пероксида водорода с участием металлов переменной валентности. Тем не менее, возможность осуществления такого механизма *in vivo* считается маловероятной [7]. Следует также отметить, что образование  $H_2O_2$  в присутствии аскорбиновой кислоты не является убедительным доказательством цитотоксических свойств последней, поскольку  $H_2O_2$  обладает как токсическим, так и регуляторным действием [8].

Ранее нами было показано, что цитотоксическое действие аскорбиновой кислоты в высоких концентрациях может быть обусловлено регуляцией кальциевой сигнализации в опухолевых клетках [9]. Механизм аскорбат-зависимой регуляции  $Ca^{2+}$ -сигнализации клеток включает усиление локальной продукции активных форм кислорода (АФК) в клетках за счет участия специфических оксидоредуктаз – НАДН:убихинон оксидоредуктазы (ЕС 1.6.5.3) и убихинол:цитохром с оксидоредуктазы (Е.С. 1.10.2.2) [10]. Согласно предложенному механизму, кроме редокс-активных соединений и их мишеней в редокс-регуляторных процессах участвуют также белки-ферменты – оксидоредуктазы, локализация которых вблизи белков-мишеней определяет специфический отклик клеток. При этом регуляторный эффект действия редокс-активных соединений определяется не конкретной молекулой, а группой взаимодействующих участников, образующих электрон-транспортные цепи (редокс-цепи), и зависит от величин параметров редокс-гомеостаза [11]. Компонентами биологических электрон-транспортных цепей являются оксидоредуктазы и эндогенные редокс-активные соединения, включая АФК и антиоксиданты. С участием электрон-транспортных цепей в биосистемах регулируются программа клеточной гибели и пролиферация клеток.

Близкие по структуре эндогенные и экзогенные антиоксиданты могут выступать участниками разных электрон-транспортных цепей, запуская при этом различные клеточные ответы. Так,

нами показано, что водорастворимые фенольные серосодержащие антиоксиданты 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфат натрия (ТС-13) и 3,5-диметил-4-гидроксипропилоэтанол калия (БЭК-11-К) вызывают в опухолевых клетках регуляторные эффекты противоположно направленного действия [12]. Обнаружено, что ТС-13 ингибирует, а БЭК-11-К стимулирует пролиферацию опухолевых клеток в культуре. Указанные эффекты синтетических антиоксидантов проявляются при концентрациях, равных физиологическим значениям концентрации аскорбата в плазме крови. На основании полученных ранее результатов мы предположили, что аскорбат может выполнять функции регулятора пролиферативной активности опухолевых клеток в концентрациях, соответствующих физиологическим значениям. Несмотря на многочисленные исследования эффектов действия аскорбиновой кислоты на опухолевые клетки в высоких фармакологических концентрациях, действие аскорбата на опухолевые клетки в низких физиологических концентрациях остается малоизученным. В данной работе исследовано действие аскорбата в физиологических концентрациях на скорость пролиферации и на химиорезистентность опухолевых клеток.

**Материалы и методы исследования.** В работе использовали культуру клеток эпидермоидной карциномы гортани человека линии НЕР-2 (коллекция клеточных культур Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии (Минск, Беларусь)). Клетки линии НЕР-2 культивировали в среде DMEM (Sigma-Aldrich) с добавлением 10 % эмбриональной бычьей сыворотки и гентамицина (0,08 мг/мл). Культивирование клеток осуществлялось в CO<sub>2</sub>-инкубаторе HERAccl 150 (Thermo Scientific) при температуре 37 °С в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub>.

Для оценки пролиферативной активности клетки линии НЕР-2 в концентрации  $5 \cdot 10^4$  кл/мл высевали в чашки Петри диаметром 35 мм и культивировали 4 сут. При проведении спектрофлуориметрических исследований клетки выращивали в культуральных пластиковых флаконах с ростовой поверхностью 25 см<sup>2</sup> и снимали через 7 сут. культивирования. Конечный объем питательной среды в обоих способах культивирования составлял 5 мл. Для определения влияния препаратов на пролиферативную активность опухолевых клеток исследуемое соединение в растворе объемом 5 мкл (разведение 1 : 1000) добавляли в чашки Петри через сутки после пересева клеток. Подсчет клеток проводили через трое суток культивирования. Пролиферативную активность оценивали по индексу пролиферации, равному отношению количества клеток в среде после 4 сут. культивирования к количеству клеток при посеве. Чувствительность модифицированных клеток к действию противоопухолевых агентов оценивали при их культивировании во втором пассаже без антиоксидантов. Долю выживших клеток ( $D_{ж}$ ) по отношению к контролю определяли по формуле

$$D_{ж} = \frac{N}{N_0} 100 \%,$$

где  $N$  – число жизнеспособных клеток в исследуемом образце;  $N_0$  – число жизнеспособных клеток в контроле. Для подсчета концентрации клеток удаляли питательную среду и обрабатывали их раствором трипсина в смеси с раствором Версена в соотношении объемов 1 : 3. Затем клетки осаждали центрифугированием (600 g, 3 мин) и ресуспензировали в HEPES-буфере. Процент жизнеспособных клеток определяли при помощи суправитального окрашивания с использованием 0,4 %-ного раствора трипанового синего. Подсчет жизнеспособных клеток проводили визуально с помощью светового микроскопа в камере Горяева (подсчет клеток в количестве не менее 100 повторяли 3 раза).

Для оценки резистентности клеток к противоопухолевым соединениям использовали доксорубин (Белмедпрепараты, Беларусь) и 2-изо-пропил-5-метил-1,4-бензохинон (тимохинон) (Sigma-Aldrich). **Противоопухолевое соединение добавляли в чашки Петри в концентрации, индуцирующей 50 %-ное ингибирование роста клеток ( $IC_{50}$ ).** Экспериментально определенная величина концентрации 50 %-ного ингибирования роста клеток линии НЕР-2 в культуре для доксорубина составила 0,2 мкМ, для тимохинона – 8 мкМ.

Внутриклеточную продукцию АФК определяли на основе анализа скорости окисления флуоресцентного зонда 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина (H<sub>2</sub>DCF). Измерения проводили при темпе-

ратуре 37 °С в HEPES-буфере следующего состава: NaCl – 131 мМ, KCl – 5 мМ, CaCl<sub>2</sub> – 1,3 мМ, MgSO<sub>4</sub> – 1,3 мМ, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,4 мМ, HEPES – 20 мМ, глюкоза – 6 мМ, pH 7,4. Суспензию клеток нагружали диацетатом H<sub>2</sub>DCF (Sigma-Aldrich), инкубируя с 10 мкМ зонда в течение 45 мин при температуре 37 °С в HEPES-буфере. Затем клетки дважды отмывали в HEPES-буфере (600 г, 3 мин). Интенсивность флуоресценции 2',7'-дихлорофлуоресцеина (DCF), образующегося при окислении H<sub>2</sub>DCF, измеряли при длине волны возбуждения 488 нм и длине волны испускания 530 нм с использованием спектрофлуориметра CM 2203 (Солар, Беларусь).

В работе использовали аскорбат натрия (Sigma-Aldrich). В качестве антиоксидантов сравнения применяли водорастворимые фенольные соединения БЭК-11-К (3,5-диметил-4-гидроксибензилтиоэтанат калия) и ТС-13 (3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфат натрия), синтезированные в НИИ химии антиоксидантов (Новосибирск, Россия), а также серосодержащий антиоксидант N-ацетил-L-цистеин (NAC) (Sigma-Aldrich). В работе использовали также ингибитор НАДФН-оксидазы апоцинин (1-(4-гидрокси-3-метоксифенил)этанон) (Sigma-Aldrich). При проведении экспериментов в суспензии клеток апоцинин добавляли при загрузке клеток H<sub>2</sub>DCF-DA, инкубируя с 500 мкМ ингибитора в течение 45 мин при температуре 37 °С в HEPES-буфере.

Приведенные в работе кинетические зависимости являются типичными для серии трех-пяти независимых экспериментов. Результаты представлены как средние значения плюс-минус стандартное отклонение среднего для трех-пяти независимых экспериментов. Различия между группами оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента, достоверными считали результаты при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Для определения влияния аскорбата на пролиферативную активность опухолевых клеток использовали антиоксидант в концентрациях от 10 до 200 мкМ. При введении аскорбата в культуру в концентрациях от 10 до 40 мкМ скорость роста клеток карциномы гортани человека линии HEP-2 не изменялась (рис. 1). При культивировании клеток с аскорбатом в концентрациях от 40 до 100 мкМ скорость роста опухолевых клеток была выше, чем в контроле. Максимальный эффект наблюдали при культивировании клеток линии HEP-2 с аскорбатом в концентрации 60 мкМ, в этом случае скорость их пролиферации увеличивалась на  $50 \pm 10\%$  в сравнении с контролем, принятым за 100% ( $p < 0,01$ ,  $n = 8$ ).

Сравнение регуляторного действия аскорбата и других антиоксидантов (БЭК-11-К, ТС-13 и NAC) показало, что эффект стимуляции пролиферативной активности клеток наблюдается только для определенных антиоксидантов. При действии фенольного антиоксиданта ТС-13 в концентрации 60 мкМ наблюдалось снижение числа клеток в культуре. Действие БЭК-11-К

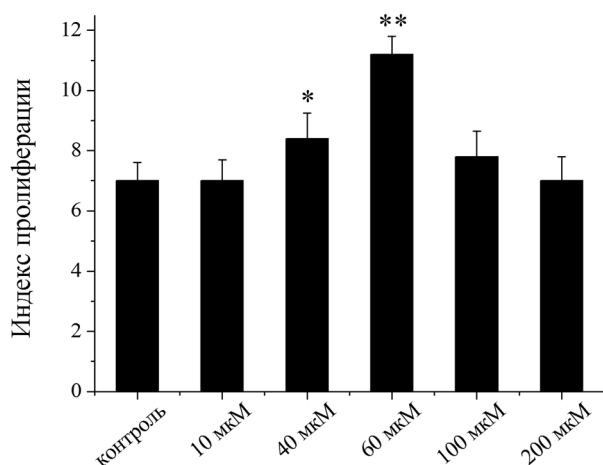


Рис. 1. Изменение пролиферативной активности клеток линии HEP-2 при культивировании с аскорбатом: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с контролем

Fig. 1. Change of proliferative activity of HEP-2 cell cultivated with ascorbate: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  in comparison to control

в концентрации 60 мкМ приводило к стимулированию пролиферативной активности клеток. При введении в культуру NAC в концентрации 60 мкМ скорость роста опухолевых клеток в культуре не изменялась. Таким образом, увеличение пролиферативной активности клеток зависит от типа антиоксиданта и, вероятно, является составляющей адапционного ответа клетки на изменение концентрации специфических антиоксидантов во внеклеточной среде.

Известно, что опухолевые клетки, характеризующиеся более высокой скоростью пролиферации, обладают также повышенной устойчивостью к действию противоопухолевых агентов в сравнении с клетками, растущими медленнее. Нами показано, что изменение функционального состояния опухолевых клеток, приводящее к увеличению их пролиферативной активности, сопровождается также

усилением резистентности к противоопухолевым агентам. В культуре клеток, модифицированных аскорбатом, количество выживших клеток при действии доксорубицина было в 1,5 раз выше, чем в культуре не модифицированных клеток (рис. 2). При изменении функционального состояния опухолевых клеток в результате действия фенольного антиоксиданта БЭК-11-К также увеличивалась их резистентность к доксорубину. Наблюдаемое сходство функциональных изменений при культивировании клеток с аскорбатом и БЭК-11-К позволяет предположить участие одной и той же сигнальной системы в реализации клеточного отклика на действие антиоксидантов. В свою очередь, культивирование клеток с антиоксидантом НАС в низких (60 мкМ) и высоких (1 мМ) концентрациях не влияло на их резистентность к доксорубину.

Следует также отметить, что модифицированные аскорбатом клетки проявляют резистентность и к другим агентам, индуцирующим их гибель. Ранее нами было показано, что при действии тимохинона – биологически активного компонента *Nigella sativa*, в результате локального повышения продукции АФК в клетках линии Нер-2 индуцируется митохондриально-опосредованный апоптоз [13]. Токсическое действие тимохинона на клетки, до пересева культивировавшиеся в присутствии 60 мкМ аскорбата, было менее выраженным, чем на клетки в контроле (рис. 2). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при действии аскорбата в концентрации 60 мкМ происходит активация адаптационного ответа клеток, в результате которого наблюдается увеличение пролиферативной активности и химиорезистентности опухолевых клеток. В биологических системах специфические рецепторы для аскорбата не обнаружены, что предполагает его участие в механизмах регуляции функций клеток в качестве метаболического регулятора, эффект действия которого проявляется только после внутриклеточных метаболических преобразований агента.

Одним из ключевых механизмов повышения резистентности клеток к стрессовым и повреждающим факторам является активация фактора транскрипции Nrf2 (Nuclear E2-related factor 2), регулирующего экспрессию генов, в промоторных областях которых содержится последовательность ARE (Antioxidant Respon(s)ive Element). Транскрипционная активность Nrf2 регулируется редокс-зависимым ингибитором Keap1 (Kelch-like ECH-associating protein 1), модификация SH-групп которого за счет их окисления или электрофильного присоединения приводит к нарушению убиквитинирования и стабилизации Nrf2, его транспорту в клеточное ядро и связыванию с ARE [14].

При изучении ARE-индуцирующей способности фенольных антиоксидантов установлена зависимость их действия от расположения окисляющихся групп в молекуле фенола, позволяющая предположить, что активация ARE происходит в результате двухэлектронного окисления-восстановления, в котором могут участвовать фенолы со взаимным *орто*- и *пара*-, но не *мета*-расположением гидроксильных групп [15]. Дегидроаскорбат, окисленная форма аскорбиновой кислоты, также может участвовать в двухэлектронных окислительно-восстановительных трансформациях. В отличие от ряда оксифенилкарбоновых кислот, не проявляющих ARE-индуцирующей активности, аскорбиновая кислота стимулирует экспрессию ARE-контролируемых генов [16]. Образование дегидроаскорбата из аскорбата в биологических системах происходит с участием

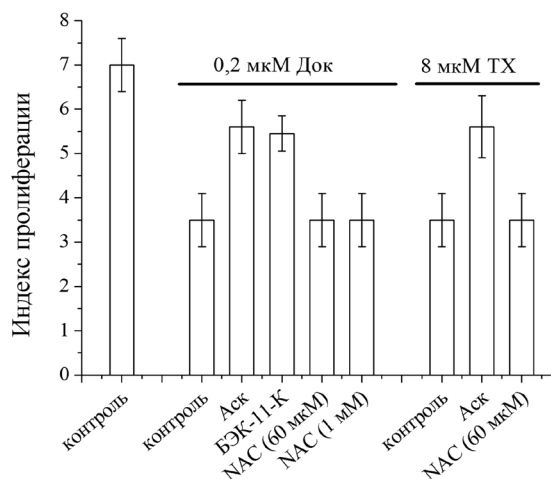


Рис. 2. Изменение числа клеток линии Нер-2 при культивировании с доксорубицином (Док) и тимохиноном (ТХ). Аск – клетки до пересева культивировали с аскорбатом (60 мкМ), БЭК-11-К – клетки до пересева культивировали с БЭК-11-К (60 мкМ), НАС (60 мкМ) – клетки до пересева культивировали с НАС в концентрации 60 мкМ, НАС (1 мМ) – клетки до пересева культивировали с НАС в концентрации 1 мМ

Fig. 2. Changes in the number of HEp-2 cells cultivated with doxorubicin (Док) and thymoquinone (ТХ). Аск – cells before reseeding cultivated with ascorbate (60 μM), БЭК-11-К – cells before reseeding cultivated with БЭК-11-К (60 μM), НАС (60 μM) – cells before reseeding cultivated with НАС (60 μM), НАС (1 mM) – cells before reseeding cultivated with НАС (1 mM)

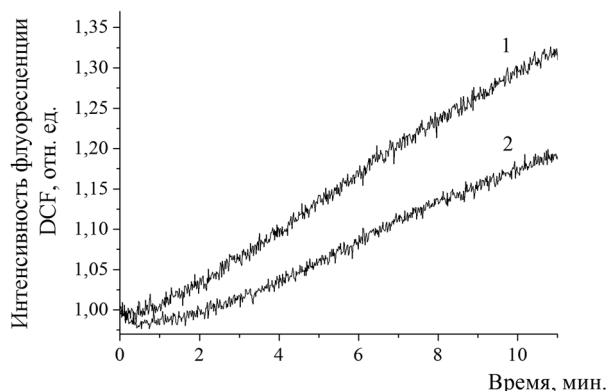


Рис. 3. Влияние апоцинина на продукцию АФК клетками линии HEp-2: 1 – изменение интенсивности флуоресценции DCF в клетках (контроль), 2 – изменение интенсивности флуоресценции DCF в клетках после обработки клеток апоцинином

Fig. 3. Effect of apocynin on ROS production by HEp 2 cells: 1 – changes in the DCF fluorescence intensity in cells (control), 2 – changes in the DCF fluorescence intensity in cells under the influence of apocynin

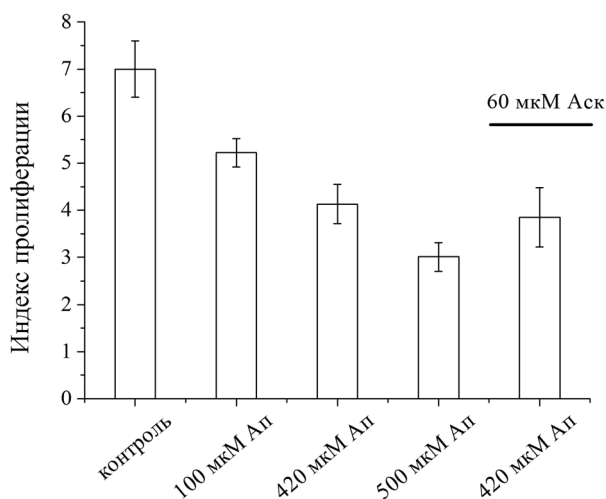


Рис. 4. Изменение пролиферативной активности клеток линии HEp-2 при культивировании с апоцинином (Ап)

Fig. 4. Change of proliferative activity of HEp-2 cell cultivated with apocynin (Ап)

приводит к снижению его уровня в крови до 10 мкМ. Обнаруженные в работе новые регуляторные эффекты аскорбата проявляются при его физиологических концентрациях, что может свидетельствовать о возможной роли запускаемого механизма в регуляции свойств клеток *in vivo*.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что при действии аскорбата в физиологических концентрациях происходит активация специфических сигнальных механизмов, индуцирующих повышение пролиферативной активности и усиление резистентности опухолевых клеток к противоопухолевым агентам. Индуцируемое при действии аскорбата усиление химиорезистентности наблюдается для разных противоопухолевых агентов, что позволяет предполагать формирование множественной лекарственной устойчивости у опухолевых клеток. Необходимым этапом для активации адаптационного ответа клеток, индуцированного аскорбатом, является продукция АФК с участием НАДФН-оксидазы. Таким образом, в отношении опухолевых клеток аскорбат проявляет как токсическое действие, так и способность индуцировать усиление химиорезистентности. Данный эффект необходимо учитывать при разработке противо-

АФК, продуцируемых внутриклеточными оксидоредуктазами. В рамках данного механизма ингибирование ключевых оксидоредуктаз приведет к ослаблению наблюдаемого эффекта.

В продукции внутриклеточных АФК в опухолевых тканях участвуют различные ферменты, включая НАДФН-оксидазу и оксидоредуктазы митохондрий. Вероятно, в регуляции роста клеток участвуют АФК, продуцируемые НАДФН-оксидазой, как это показано для ряда клеток, включая эндотелиальные [17]. Для оценки вклада НАДФН-оксидазы нами использовался специфический ингибитор фермента – апоцинин. Предварительная инкубация клеток с апоцинином приводила к снижению выхода АФК по сравнению с контролем (рис. 3), что свидетельствует об участии НАДФН-оксидазы в механизмах продукции АФК опухолевыми клетками.

Также обнаружено, что ингибирование сборки НАДФН-оксидазы при действии апоцинина в клетках карциномы гортани человека линии HEp-2 вызывало снижение их пролиферативной активности в культуре (рис. 4). В свою очередь, добавление аскорбата в концентрации 60 мкМ в культуру клеток, предварительно обработанных апоцинином, не приводило к увеличению их пролиферативной активности. Таким образом, НАДФН-оксидаза является ключевым ферментом, регулирующим формирование адаптационного ответа опухолевых клеток при действии аскорбата.

Величина концентрации аскорбата в плазме крови является гомеостатическим параметром и поддерживается в диапазоне 40–80 мкМ [1]. При употреблении высоких доз аскорбиновой кислоты *per os* содержание антиоксиданта в крови может достигать 200 мкМ [4]. С другой стороны, дефицит аскорбата в организме

опухолевых биомедицинских технологий, особенно тех, в которых для индуцирования гибели опухолевых клеток используется аскорбиновая кислота. С другой стороны, способность аскорбата в низких физиологических концентрациях усиливать пролиферативную активность может использоваться для ускоренного производства биоматериала в клеточных технологиях и клеточной инженерии.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке БРФФИ (грант № M16P-022) и РФФИ (грант № 16-54-00050).

**Acknowledgements.** The work is sponsored by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant No. M16P-022) and by the Russian Foundation for Basic Research (grant no. 16-54-00050).

### Список использованных источников

1. Du, J. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer / J. Du, J. J. Cullen, G. R. Buettner // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2012. – Vol. 1826, N 2. – P. 443–457. doi.org/10.1016/j.bbcan.2012.06.003
2. Cameron, E. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: prolongation of survival times in terminal human cancer / E. Cameron, L. Pauling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1976. – Vol. 73, N 10. – P. 3685–3689. doi.org/10.1073/pnas.73.10.3685
3. High-dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy A randomized double-blind comparison / C. G. Moertel [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1985. – Vol. 312, N 3. – P. 137–141. doi.org/10.1056/nejm198501173120301
4. Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use / S. J. Padayatty [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2004. – Vol. 140, N 7. – P. 533–537. doi.org/10.7326/0003-4819-140-7-200404060-00010
5. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice / Q. Chen [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105, N 32. – P. 11105–11109. doi.org/10.1073/pnas.0804226105
6. Pharmacological ascorbic acid suppresses syngeneic tumor growth and metastases in hormone-refractory prostate cancer / H. B. Pollard [et al.] // *In Vivo.* – 2010. – Vol. 24. – P. 249–255.
7. Suh, J. Ascorbate does not act as a pro-oxidant towards lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide / J. Suh, B. Zhu, B. Frei // *Free Radic. Biol. Med.* – 2003. – Vol. 34, N 10. – P. 1306–1314. doi.org/10.1016/s0891-5849(03)00147-3
8. Редокс-регуляция клеточной активности: концепции и механизмы / С. Н. Черенкевич [и др.] // *Весті НАН Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2013. – № 1. – С. 92–108.
9. Martinovich, G. G. Effects of ascorbic acid on calcium signaling in tumor cells / G. G. Martinovich, I. V. Martinovich, S. N. Cherenkevich // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2009. – Vol. 147, N 4. – P. 469–472. doi.org/10.1007/s10517-009-0555-6
10. Redox regulation of calcium signaling in cancer cells by ascorbic acid involving the mitochondrial electron transport chain / G. G. Martinovich [et al.] // *Journal of Biophysics.* – 2012. – Vol. 2012. – Art. 921653. doi.org/10.1155/2012/921653
11. Martinovich, G. G. Redox regulation of cellular processes: a biophysical model and experiment / G. G. Martinovich, I. V. Martinovich, S. N. Cherenkevich // *Biophysics.* – 2011. – Vol. 56, N 3. – P. 444–451. doi.org/10.1134/s0006350911030171
12. Phenolic antioxidant TS-13 regulating ARE-driven genes induces tumor cell death by a mitochondria-dependent pathway / G. G. Martinovich [et al.] // *Biophysics.* – 2015. – Vol. 60, N 1. – P. 94–100. doi.org/10.1134/s0006350915010194
13. Thymoquinone, a biologically active component of *Nigella sativa*, induces mitochondrial production of reactive oxygen species and programmed death of tumor cells / G. G. Martinovich [et al.] // *Biophysics.* – 2016. – Vol. 61, N 6. – P. 963–970. doi.org/10.1134/s0006350916060154
14. Mazes of Nrf2 Regulation / N. K. Zenkov [et al.] // *Biochemistry (Mosc).* – 2017. – Vol. 82, N 5. – P. 556–564. doi.org/10.1134/s0006297917050030
15. Dinkova-Kostova, A. T. Chemical structures of inducers of nicotinamide quinone oxidoreductase 1 (NQO1) / A. T. Dinkova-Kostova, J. W. Fahey, P. Talalay // *Meth. Enzymol.* – 2004. – Vol. 382. – P. 423–448. doi.org/10.1016/s0076-6879(04)82023-8
16. Ascorbic acid reduces HMGB1 secretion in lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 cells and improves survival rate in septic mice by activation of Nrf2/HO-1 signals / S. R. Kim [et al.] // *Biochemical Pharmacology.* – 2015. – Vol. 95, N 4. – P. 279–289. doi.org/10.1016/j.bcp.2015.04.007
17. NADPH oxidase activity is required for endothelial cell proliferation and migration / M. Abid [et al.] // *FEBS Letters.* – 2000. – Vol. 486, N 3. – P. 252–256. doi.org/10.1016/s0014-5793(00)02305-x

### References

1. Du J., Cullen J. J., Buettner G. R. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*, 2012, vol. 1826, no. 2, pp. 443–457. doi.org/10.1016/j.bbcan.2012.06.003
2. Cameron E., Pauling L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1976, vol. 73, no. 10, pp. 3685–3689. doi.org/10.1073/pnas.73.10.3685
3. Moertel C. G., Fleming T. R., Creagan E. T., Rubin J., O’Connell M. J., Ames M. M. High-dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy – A randomized double-blind comparison. *New England Journal of Medicine*, 1985, vol. 312, no. 3, pp. 137–141. doi.org/10.1056/nejm198501173120301

4. Padayatty S. J., Sun H., Wang Y. H., Riordan H. D., Hewitt S. M., Katz A., Wesley R. A., Levine M. Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. *Annals of Internal Medicine*, 2004, vol. 140, no. 7, pp. 533–537. doi.org/10.7326/0003-4819-140-7-200404060-00010
5. Chen Q., Espey M., Sun A., Pooput C., Kirk K., Krishna M., Khosh D., Drisko J., Levine M. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, vol. 105, no. 32, pp. 11105–11109. doi.org/10.1073/pnas.0804226105
6. Pollard H. B., Levine M. A., Eidelman O., Pollard M. Pharmacological ascorbic acid suppresses syngeneic tumor growth and metastases in hormone-refractory prostate cancer. *In Vivo*, 2010, vol. 24, pp. 249–255.
7. Suh J., Zhu B., Frei B. Ascorbate does not act as a pro-oxidant towards lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. *Free Radical Biology and Medicine*, 2003, vol. 34, no. 10, pp. 1306–1314. doi.org/10.1016/s0891-5849(03)00147-3
8. Cherenkevich S. N., Martinovich G. G., Martinovich I. V., Gorudko I. V., Shamova E. V. Redox regulation of cellular activity: concepts and mechanisms. *Vestsi Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2013, no. 1, pp. 92–108 (in Russian).
9. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N. Effects of ascorbic acid on calcium signaling in tumor cells. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2009, vol. 147, no. 4, pp. 469–472. doi.org/10.1007/s10517-009-0555-6
10. Martinovich G. G., Golubeva E. N., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N. Redox regulation of calcium signaling in cancer cells by ascorbic acid involving the mitochondrial electron transport chain. *Journal of Biophysics*, 2012, vol. 2012, art. 921653. doi.org/10.1155/2012/921653
11. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N. Redox regulation of cellular processes: a biophysical model and experiment. *Biophysics*, 2011, vol. 56, no. 3, pp. 444–451. doi.org/10.1134/s0006350911030171
12. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Zenkov N. K., Menshchikova E. B., Kandalintseva N. V., Cherenkevich S. N. Phenolic antioxidant TS-13 regulating ARE-driven genes induces tumor cell death by a mitochondria-dependent pathway. *Biophysics*, 2015, vol. 60, no. 1, pp. 94–100. doi.org/10.1134/s0006350915010194
13. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Vcherashniaya A. V., Shadyro O. I., Cherenkevich S. N. Thymoquinone, a biologically active component of *Nigella sativa*, induces mitochondrial production of reactive oxygen species and programmed death of tumor cells. *Biophysics*, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 963–970. doi.org/10.1134/s0006350916060154
14. Zenkov N. K., Kozhin P. M., Chechushkov A. V., Martinovich G. G., Kandalintseva N. V., Menshchikova E. B. Mazes of Nrf2 Regulation. *Biochemistry (Moscow)*, 2017, vol. 82, no. 5, pp. 556–564. doi.org/10.1134/s0006297917050030
15. Dinkova-Kostova A. T., Fahey J. W., Talalay P. Chemical structures of inducers of nicotinamide quinine oxidoreductase 1 (NQO1). *Methods in Enzymology*, 2004, vol. 382, pp. 423–448. doi.org/10.1016/s0076-6879(04)82023-8
16. Kim S. R., Ha Y. M., Kim Y. M., Park E. J., Kim J. W., Park S. W., Kim H. J., Chung H. T., Chang K. C. Ascorbic acid reduces HMGB1 secretion in lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 cells and improves survival rate in septic mice by activation of Nrf2/HO-1 signals. *Biochemical Pharmacology*, 2015, vol. 95, no. 4, pp. 279–289. doi.org/10.1016/j.bcp.2015.04.007
17. Abid M., Kachra Z., Spokes K. C., Aird W. C. NADPH oxidase activity is required for endothelial cell proliferation and migration. *FEBS Letters*, 2000, vol. 486, no. 3, pp. 252–256. doi.org/10.1016/s0014-5793(00)02305-x

### Информация об авторах

*Мартинovich Григорий Григорьевич* – д-р биол. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: martinovichgg@bsu.by.

*Мартинovich Ирина Викторовна* – ст. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: parkun@bsu.by.

*Вчерашняя Александра Васильевна* – мл. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tuata\_de\_danann@mail.ru.

*Зенков Николай Константинович* – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины (ул. Академика Тимакова, 2, 630117, Новосибирск, Российская Федерация). E-mail: lemen@centercem.ru.

*Меньщикова Елена Брониславовна* – д-р мед. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины (ул. Академика Тимакова, 2, 630117, Новосибирск, Российская Федерация). E-mail: lemen@centercem.ru.

*Черенкевич Сергей Николаевич* – академик, д-р биол. наук, профессор. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: cherenkevich@bsu.by.

### Information about the authors

*Martinovich Grigory Grigorievich* – D. Sc. (Biology), Assistant Professor, Head of the Department. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: martinovichgg@bsu.by.

*Martinovich Irina Viktorovna* – Senior researcher. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: parkun@bsu.by.

*Vcherashniaya Aleksandra Vasilievna* – Junior researcher. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tuata\_de\_danann@mail.ru.

*Zenzov Nikolai Konstantinovich* – D. Sc. (Biology), Leading researcher. Research Institute of Experimental and Clinical Medicine (2, Academician Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). E-mail: lemen@centercem.ru.

*Menshchikova Elena Bronislavovna* – D. Sc. (Medicine), Assistant Professor, Chief researcher. Research Institute of Experimental and Clinical Medicine (2, Academician Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). E-mail: lemen@centercem.ru.

*Cherenkevich Sergei Nikolaevich* – Academician, D. Sc. (Biology), Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: cherenkevich@bsu.by.